

24.
28



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"**

**EFFECTO ANTIBACTERIANO DE APLICACION
TOPICA DENTAL DE ACETATO DE CLORHEXIDINA
AL 10% Y FLUORURO DE SODIO AL 2% SOBRE EL
NIVEL DE S. mutans ORAL EN ESCOLARES DE
8 A 10 AÑOS**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
NORMA CELIA GONZALEZ HUERTA

**ASESORES: C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO
O.F.B. MARTHA A. SANCHEZ RODRIGUEZ**



MEXICO, D. F.

1997

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EL PRESENTE TRABAJO SE REALIZÓ EN:

**UNIDAD UNIVERSITARIA DE INVESTIGACIÓN EN
CARIOLOGÍA**

LABORATORIO DE ANÁLISIS CLÍNICOS "ZARAGOZA"

FES ZARAGOZA

UNAM

1997

JURADO

C.D. ANGÉLICA MARTÍNEZ RODRÍGUEZ

C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO

Q.F.B. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

M en C. LUIS A. MORA GUEVARA

C.D. TERESA ZARAGOZA MENESES

AGRADECIMIENTOS

A MIS ASESORES:

C.D. DOLORES DE LA CRUZ CARDOSO

Q.F.B. MARTHA A. SÁNCHEZ RODRÍGUEZ

**POR LAS ENSEÑANZAS, APOYO Y CONFIANZA BRINDADAS DURANTE
EL DESARROLLO DE ESTE TRABAJO.**

M en C. ARMANDO CERVANTES SANDOVAL

POR SU AYUDA EN EL ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ESTE TRABAJO.

Yo soy yo

**En todo el mundo, no hay nadie
exactamente como yo.
Hay personas que tienen algunas
partes en que se parecen a mi,
pero nadie es idéntico a mi,
por lo tanto, todo lo que sale de
mi es auténticamente mío porque yo sola
lo elegí.**

**Todo lo mío me pertenece - cuerpo,
incluyendo todo lo que éste hace;
mi mente, incluyendo todos sus pensamientos e
ideas;
mis ojos, incluyendo las imágenes que
perciben;
mis sentimientos, cualquiera que éstos
puedan ser -
coraje, alegría, frustración, amor, desilusión,
exitación;
mi boca, y todas las palabras que salgan
de ella, agradables, dulces o bruscas, justas
o injustas;
mi voz, fuerte o suave;
y todos mis actos, sean éstos para
otros o para mi misma.**

**Me pertenecen mis fantasías, mis sueños, mis
esperanzas, mis temores.
Me pertenecen todos mis triunfos y éxitos, todos
mis fracasos y errores.
Porque todo lo mío me pertenece,
puedo llegar a**

familiarizarme íntimamente conmigo misma.
Y al hacer esto puedo amarme
y aceptarme, y aceptar todas las partes
de mi cuerpo.

Entonces puedo hacer posible que todo lo
que me pertenece
trabaje para lograr lo mejor para mí.
Sé que hay aspectos de mí misma
que me confunden, y otros que
no conozco.

Pero mientras me conozca y me ame,
puedo buscar valerosamente y con esperanza
la solución a mis confusiones y la forma
de conocerme más.

La forma como juzga, como suena para los
demás, lo que
diga o haga, lo que piense
y sienta en un momento determinado, soy yo.
Esto es auténtico y representa dónde
estoy en ese momento.

Cuando más adelante analice cómo lucía y
sonaba, lo que dije e hice, y cómo
pensé y sentí, algo parecerá no encajar.

Puedo descartar lo que parece no encajar, y
conservar lo que sí encajó, e idear
algo nuevo para reemplazar lo que
descarté.

Puedo ver, oír, sentir, pensar, hablar y actuar.
Tengo los instrumentos para sobrevivir, para
acercarme a los demás, para ser

familiarizarme íntimamente conmigo misma.
Y al hacer esto puedo amarme
y aceptarme, y aceptar todas las partes
de mi cuerpo.

Entonces puedo hacer posible que todo lo
que me pertenece
trabaje para lograr lo mejor para mí.
Sé que hay aspectos de mí misma
que me confunden, y otros que
no conozco.

Pero mientras me conozca y me ame,
puedo buscar valerosamente y con esperanza
la solución a mis confusiones y la forma
de conocerme más.

La forma como luzca, como suene para los
demás, lo que
diga o haga, lo que piense
y sienta en un momento determinado, soy yo.
Esto es auténtico y representa dónde
estoy en ese momento.

Cuando más adelante analice cómo lucía y
sonaba, lo que dije e hice, y cómo
pensé y sentí, algo parecerá no encajar.

Puedo descartar lo que parece no encajar, y
conservar lo que sí encajó, e idear
algo nuevo para reemplazar lo que
descarté.

Puedo ver, oír, sentir, pensar, hablar y actuar.
Tengo los instrumentos para sobrevivir, para
acercarme a los demás, para ser

productiva y para hacer
sentido y sacar del mundo a las
personas y cosas ajenas a mi.
Me pertenezco
y por lo tanto puedo manejarme.
Yo soy yo
y yo estoy bien.

Virginia Satir

DEDICATORIAS

A MIS PADRES Y HERMANAS:

Por que gracias a su cariño y apoyo ilimitado tuve vigor para desafiar los retos y adversidades, logrando asi realizar la culminación de una de mis metas, la cual constituye la herencia más valiosa que pudiera recibir.

A MIS FAMILIARES:

Por su respaldo recibido durante toda mi formación profesional

A LOS PROFESORES DE LA CARRERA:

**Por sus enseñanzas, las cuales han sido la pauta
para la formación de nuestro espíritu profesional**

A MIS VERDADEROS AMIGOS:

**Por los momentos buenos y malos que
compartimos y porque nuestras
diferencias no nos han distanciado sólo
nos han hecho más interesantes.**

**Anhelando que nuestra amistad
incondicional sea por siempre.**

ÍNDICE

	PÁGINA
INTRODUCCIÓN	1
I FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	3
1. CARIES DENTAL	3
1.1. PLACA DENTAL	3
1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE LA FLORA DE LA PLACA BACTERIANA	4
1.3. ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL	4
2. FAMILIA STREPTOCOCCACEAE	6
2.1. ESTREPTOCOCCUS VIRIDANS	7
3. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS	8
3.1. MÉTODO SEMICUANTITATIVO	8
3.2. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE IDENTIFICACIÓN	12
4. TRATAMIENTO	15
II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
III OBJETIVOS	22

A. OBJETIVO GENERAL	22
B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
IV. HIPÓTESIS	23
V. MATERIAL Y EQUIPO	24
A. INSTRUMENTOS	24
B. EQUIPO DE REACTIVOS	24
C. REACTIVOS	25
D. SOLUCIONES	25
E. MATERIAL BIOLÓGICO	26
F. MATERIAL DE VIDRIO	26
G. OTROS	26
VI. METODOLOGÍA	28
A. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES	28
B. VARIABLES	29
C. CRITERIOS DE INCLUSIÓN	29
D. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	30
E. CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	30
F. DIAGRAMA DE FLUJO	31
1. METODOLOGÍA GENERAL	31
2. METODOLOGÍA DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	32

G. PROCEDIMIENTO	33
1. RECOLECCIÓN DE MUESTRA SALIVAL	33
2. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO SEMICUANTITATIVO COMERCIAL	33
3. ANÁLISIS MICROSCÓPICO Y BIOQUÍMICO	35
4. APLICACIÓN TÓPICA DE ACETATO DE CLORHEXIDINA AL 10%	36
5. APLICACIÓN TÓPICA DE FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA	37
VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	39
VIII. RESULTADOS	40
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	51
X. CONCLUSIONES	58
XI. RECOMENDACIONES	60
XII. BIBLIOGRAFÍA	61

INTRODUCCIÓN

Los *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) forman parte de la flora normal en cavidad bucal, sin embargo ha sido implicado en la etiología de la caries dental, dando lugar generalmente a ésta cuando hay un número mayor a 100 000 UFC de *S. mutans*/mL saliva.

El desarrollo de la caries dental involucra una triada de factores: la placa bacteriana adherida a la superficie dentaria, la presencia de un sustrato adecuado proveniente sobre todo de la dieta y por último una superficie dentaria susceptible.

El control para la caries dental no es determinante, pues su origen multifactorial no permite concluir un tratamiento definitivo para la eliminación de la enfermedad. Por lo que el establecimiento de medidas preventivas con respecto a la etiología bacteriana da lugar a utilizar agentes antibacterianos.

El presente trabajo evalúa dos agentes antibacterianos: acetato de clorhexidina al 10% y fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa, determinando cuantitativamente la reducción del número de *S. mutans* que se origina después de la aplicación tópica dental de los agentes mencionados.

Acetato de clorhexidina al 10% sólo fue estadísticamente significativo ($P= 0.05$) a 45 días después de su aplicación. Mientras que fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa disminuyó el número de *S. mutans* en cavidad oral a 30 y 45 días, con un nivel de confianza

de 0.05. De acuerdo al análisis bacteriológico semicuantitativo realizado en los tiempos mencionados.

I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

I.1. CARIES DENTAL

La caries dental es la enfermedad crónica del diente que más frecuentemente afecta a la raza humana (1) . En el desarrollo de la caries dental se considera la implicación de una triada de factores indispensables: bacterias (placa dental), carbohidratos (la dieta) y susceptibilidad del diente (del huésped) (2). El inicio de la caries dental parece ser una desmineralización sobre esmalte dental causada por el ácido láctico y otros ácidos orgánicos producidos por las bacterias superpuestas a partir de los carbohidratos. Aunque muchas bacterias pueden producir altas concentraciones de ácido *in vitro* , solamente algunas especies han sido asociadas con la caries dental en los seres humanos (3) .

I.1.1. PLACA DENTAL

En la cavidad oral, distintos conjuntos de bacterias colonizan las superficies y fisuras de los diversos puntos: los dientes, el dorso de la lengua, la mucosa bucal y la región de las hendiduras gingivales. En las superficies de los dientes las bacterias se acumulan en grandes masas, calificada de placa dentobacteriana, la cual consiste en colonias mixtas de bacterias.

Las células bacterianas constituyen el 60 a 70% del volumen de la placa y están empotradas en una matriz compuesta de polímeros bacterianos y salivales, restos de células epiteliales y leucocitos. Estas acumulaciones someten a los dientes y tejidos gingivales a elevadas concentraciones de metabolitos bacterianos que provocan enfermedades dentales, entre las que se encuentra la caries dental (3) .

I.1.2. CLASIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DE LA FLORA DE LA PLACA BACTERIANA.

Los criterios de clasificación son simples, pero muy eficaces, y se basan en una tinción de Gram y en la morfología microscópica de las bacterias (Cuadro I.1) (4) .

I.1.3. ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL

Los microorganismos del grupo viridans entre los que se encuentra *S. mutans*, se asocia con el desarrollo inicial de las lesiones del esmalte en los seres humanos (3) . constituyendo así un papel central en la etiología de la caries dental (3) .

Cuadro I.1. Microorganismos de la placa
 Siguiendo el esquema de Rateitschak y Wolf (1984), las especies más importantes de la microflora de la placa se clasifican según sus características tintoriales y respiratorias.

	GRAMPOSITIVOS		GRAMNEGATIVOS	
	AEROBIO, ANAEROBIO FACULTATIVO	ANAEROBIO	AEROBIO, ANAEROBIO FACULTATIVO	ANAEROBIO
Cocos	<i>Streptococcus</i> * <i>S. milleri</i> <i>S. mitis</i> <i>S. mutans</i> <i>S. salivarius</i> <i>S. sanguis</i>	<i>Peptostreptococcus</i>	<i>Neisseria</i>	<i>Veillonella</i>
Bacilos y filamentosos	<i>Corynebacterium</i> <i>Lactobacillus</i> * Familia <i>Actinomycetaceae</i> <i>Actinomyces</i> * <i>Arachnia</i> <i>Bacterionema</i> <i>Rothia</i>	<i>Eubacterium</i> <i>Propionibacterium</i>	<i>Actinobacillus</i> <i>Capnocytophaga</i> <i>Eikenella</i> <i>Haemophilus</i>	<i>Fusobacterium</i> <i>Leptotrichia</i> <i>Bacteroides</i> <i>B. gingivalis</i>
Bacterias espirilares				<i>Campylobacter</i> <i>Treponema</i>

* Bacterias más cariogénicas

Fuente: Riethe P, 1990.

Clarke en 1924, describió una especie de estreptococo: *S. mitis*, el cual casi invariablemente se aislaba de lesiones cariosas en los dientes. Aunque el trabajo fue confirmado tres años más tarde por McLean, el interés científico en *S. mitis* permaneció latente hasta su redescubrimiento explosivo a mediados del decenio de los sesenta (1) .

S. mitis parece ser importante en la iniciación de la caries del esmalte, pero no es probable que sea la única causa del deterioro dental, también juega un papel importante tanto los lactobacilos como actinomicetos que se encuentran generalmente en la dentina cariada humana, lo que sugiere que pueden ser también invasores secundarios frecuentes que contribuyen a la progresión de las lesiones (2) .

1.2. FAMILIA STREPTOCOCCACEAE

Los estreptococos son bacterias esféricas grampositivas que forman de modo característico, pares o cadenas durante el crecimiento. Algunos forman parte de la flora normal humana, otros se relacionan con importantes enfermedades humanas atribuibles a la infección por los estreptococos (3) .

Los estreptococos son un grupo heterogéneo de bacterias y ningún sistema es suficiente para clasificarlos (4) .

1.2.1. ESTREPTOCOCOS VIRIDANS

Los estreptococos viridans es un grupo heterogéneo de microorganismos del género *Streptococcus* (7) . Constituyen una gran proporción en la flora normal de vías respiratorias superiores . Algunos estreptococos viridans (*S. mutans*, por ejemplo) contribuyen de manera importantísima a la génesis de la caries dental (6) . Se ha propuesto una clasificación por Facklam en los Estados Unidos (Cuadro 1.2) (8) .

Cuadro 1.2. Estreptococos viridans (CDC)

1. *S. mitis*
2. *S. sanguis I*
3. *S. sanguis II*
4. *S. intermedius*
5. *S. constellatus*
6. *S. salivarius*
7. *S. mutans*
8. *S. uberis*
9. *S. morbillorum*
10. *S. acidominimus*

Fuente: Facklam RR, 1977.
Nota: Koneman EW, 1992 (7).

I.3. DETERMINACIÓN DE MICROORGANISMOS CARIOGÉNICOS

Una correlación cercana entre la iniciación de caries dental y un elevado nivel de *S. mutans* en placa dental y saliva total ha sido reportada por algunos autores como Stoppelaar et. al. (9) ; Wood (10) ; Edwardsson (11) ; Loesche et. al. (12) , entre otros. Por lo tanto el conteo de *S. mutans* en placa dental y saliva total o la determinación del número de *S. mutans* en la dentición han sido evaluados clínicamente como pronósticos confiables de caries dental (13) .

La determinación cuantitativa de *S. mutans* en la saliva indica la cantidad existente de *S. mutans* en toda la boca, puede ser usada como un indicador del desarrollo inicial de la caries dental (4, 14, 15, 16, 17) .

Existen tres sistemas comerciales dip-slide (portaobjetos) que permiten determinar la concentración de *S. mutans*. Los tres se basan en la inhibición del desarrollo de otros estreptococos orales en agar mitis salivarius (18) .

I.3.1. MÉTODO SEMICUANTITATIVO

Estos métodos tienen como finalidad disminuir tiempo de procesamiento, pues la presentación del equipo, en este caso, evita la preparación del medio de cultivo y soluciones que complementan la prueba diagnóstica tradicional.

La técnica semicuantitativa a utilizar consiste en un soporte de plástico donde se acarrea el medio de cultivo, que se moja directamente con la muestra salival diluida en una

solución amortiguadora. La densidad del crecimiento es proporcional a la cuenta bacteriana de la muestra que puede determinarse en comparación con ilustraciones estándar (Figura I. 1) (19) .

Existen en el mercado varios sistemas, los cuales contienen un soporte de cultivo con los requerimientos necesarios para el crecimiento bacteriano, además de ser altamente selectivos, ya que permite identificar un sólo tipo de bacteria de interés a estudio, como es el caso de Cariescreen SM (fabricado por APO Diagnostics, INC., Toronto, Canada).

Las características del kit Diagnóstico Cariescreen SM son las siguientes:

- **Soporte de plástico que contiene un medio de cultivo constituido por:**

Peptona de caseína

Peptona de carne

Dextrosa

Sacarosa

Fosfato dipotásico

Azul de tripano

Cristal violeta

Telurito de potasio

Sulfato de amonio

Agar

• Solución amortiguadora diluyente (estéril), donde se agrega una tableta de Bacitracina USP 750 I.U. antes de agregar la muestra salival (estimulada por masticación con parafina), conteniendo ésta:

Cloruro de sodio

Fosfato de potasio dibásico

Fosfato de potasio monobásico

• Se requiere incubación a 37° C por 48 horas, una vez impregnado el medio con la muestra salival diluida.

• El conteo de colonias es semicuantitativo.

• Duración y almacenamiento. La fecha de caducidad se indica en la presentación y la temperatura de almacenamiento es de 2 a 8 ° C.

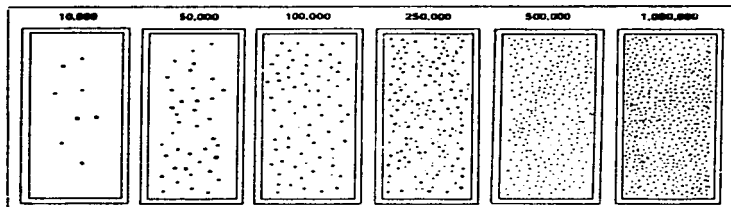
• El Cariescreen SM es desechable.

La interpretación de un cultivo primario después de la incubación requiere de una considerable habilidad. Esta evaluación se hace (8) :

Observando las características de cada tipo de colonia recuperada en el medio de agar ;

Determinando coloración de Gram y morfología de las bacterias en cada tipo de colonia.

Figura 1.1. Modelo de referencia de la densidad de colonias



Streptococcus mutans por mL de saliva

Fuente: Jordan HV, 1987.

La evaluación de las características macroscópicas de las colonias habitualmente se lleva a cabo por medio de la inspección visual del crecimiento en la superficie del agar (8).

En agar mitis-salivarius bajo condiciones anaerobias, *S. mutans* crece a 37° C como colonias duras, altamente refráctiles, elevadas, que se adhieren a la superficie del agar y varían en tamaño desde 0.5 a 1.0 mm de diámetro. Las condiciones anaerobias consta de 5% de bióxido de carbono y 95% de nitrógeno (20).

El crecimiento sobre agar mitis-salivarius aerobico no es abundante, las colonias tienden a crecer hacia el interior del agar (20).

Por otro lado, la tinción de Gram, descubierta hace poco más de 100 años por Hans Christian Gram, se usa con mucha frecuencia para el examen microscópico directo de muestras y subcultivos (7).

Las impresiones preliminares basadas en la observación de las características de las colonias, pueden confirmarse estudiando frotis con tinción de Gram, una técnica relativamente sencilla (7).

I.3.2. CARACTERÍSTICAS DIFERENCIALES DE IDENTIFICACIÓN

La identificación bacteriana preliminar puede hacerse mediante la observación de características de las colonias y morfología con tinción de Gram, como ya se ha comentado. Sin embargo, la caracterización final de un aislamiento bacteriano desconocido para identificarlo a nivel de género y especie habitualmente se lleva a cabo estudiando ciertos sistemas enzimáticos que son únicos para cada especie y sirven como marcadores de identificación. En el laboratorio, estos sistemas enzimáticos se detectan inoculando una pequeña porción de una colonia bacteriana bien aislada en una serie de medios de cultivo que contienen sustratos específicos e indicadores químicos para detectar cambios de pH o la presencia de subproductos específicos (7).

Para la identificación de cocos grampositivos anaerobios facultativos pueden usarse diversos tipos de pruebas diferenciales. Estos métodos varían considerablemente de

laboratorio en laboratorio, de acuerdo con el grado de requerimiento de identificación de la especie (7) .

Los estafilococos y estreptococos se diferencian formalmente sobre la base de la prueba de la catalasa. Los estreptococos son catalasa negativa (7) .

Las características fisiológicas típicas de las diferentes especies viridans, se enlistan en el Cuadro 1.3 (7) . A diferencia de lo que sucede con la mayor parte de los otros estreptococos bucales, todas las cepas de *S. mutans* fermentan manitol y sorbitol (20) .

A) PRUEBA DE LA CATALASA.

La catalasa es una enzima que descompone el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) en oxígeno y agua. Salvo los estreptococos, la mayor parte de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas poseen actividad catalasa . Si se acumula, el peróxido de hidrógeno es letal para las células bacterianas (7) .



Cuadro 1.3. diferenciación de estreptococos viridans encontrados en infecciones humanas

ESPECIES	PRUEBAS FISIOLÓGICAS					
	ALMIDÓN	HIPURATO	SACAROSA	LACTOSA	MANITOL	SORBITOL
<i>S. mutans</i>	-	-	+	+	+	+
<i>S. uberis</i>	-	+*	+	+	+	+
<i>S. intermedius</i>	-*	-	+	+	-	-
<i>S. constellatus</i>	-	-	+	-	-	-
<i>S. sanguis I</i>	+*	-	+	+	-	-
<i>S. salivarius</i>	-*	-	+	+*	-	-
<i>S. mitis</i>	-	-	+	+	-	-
<i>S. sanguis II</i>	-*	-	+	+	-	-
<i>S. morbillorum</i>	-	-	+	-	-	-
<i>S. acidominimus</i>	-	+*	+	-	-	-

* Ocurren excepciones ocasionales

Fuente Koneman EW, 1992

B) FERMENTACIÓN DE LOS HIDRATOS DE CARBONO

Determinar la capacidad de un organismo de fermentar (degradar) un hidrato de carbono específico incorporado a un medio básico produciendo ácido o ácido con gas visible (21).

I.4. TRATAMIENTO

Las caries existentes y restauraciones mal ajustadas deberán ser eliminadas, por lo que se deberán hacerse nuevas preparaciones y restauraciones en pacientes afectados para poder conservar la dentición (22).

Las restauraciones serán solamente de valor limitado ya que los dientes y las restauraciones presentarán lesiones adicionales y que pueden causar la pérdida de los dientes (22).

Parece ser que los sujetos altamente infectados con *S. mutans* desarrollarán más caries que aquellos que tienen menor infección de este microorganismo, la prevalencia de *S. mutans* puede ser usada para hacer una selección de individuos para una profilaxis y tratamiento antimicrobiano (10, 23).

El control de la caries dental requiere múltiples enfoques debido a que es una enfermedad multifactorial e incluyen el aumento de la resistencia del huésped y la disminución de la amenaza microbiana (24) .

La prevención de la caries puede realizarse por procedimientos químicos o mecánicos. Considerando la caries dental como enfermedad localizada y que se confina en los dientes, es fácilmente accesible para la observación clínica directa y para aplicar diversos agentes químicos (24) .

La prevención de la caries dental humana por control antimicrobiano de la placa ha contribuido positivamente, adjunto con el uso de fluoruro y restricción del azúcar, pero sólo algunos agentes antimicrobianos se han utilizado clínicamente más que el fluoruro (25) .

El justificar el uso de agentes antimicrobianos desde hace varios años es debido a que mantiene un control sobre la placa y por lo tanto la reducción de la enfermedad (26) .

La clorhexidina es un agente antimicrobiano de amplio espectro asegurando efectos sobre la gingivitis y caries dental (25) . La clorhexidina ha sido aprovechada por muchos años para el control de la placa y la supresión de *S. mutans* en sujetos susceptibles a caries y reduciendo el número de los mismos (26) . Las bacterias gram positivas presentan una susceptibilidad mayor a la clorhexidina que los gram negativos. Entre las bacterias gram positivas, el *S. mutans* es particularmente susceptible. La clorhexidina *in vitro* no es superior a la de otros agentes antibacterianos (p. ej. alexidina, yodo, fluoruro), sin embargo, su propiedad de fijarse a las estructuras bucales hace que no sea eliminada rápidamente de la cavidad oral sino que se libere lentamente después de su uso por lo que la acción

antibacteriana es mantenida durante varias horas. Esta propiedad se llama sustentividad y es seguramente la causa de la superioridad de la clorhexidina sobre otros agentes antiplaca (27) . Agentes antimicrobianos tales como antibióticos y gel de clorhexidina han demostrado que reducen el nivel de S. mutans oral en el hombre concomitantemente una reducción en la actividad de la caries dental (16, 28) . Recientemente, se han revisado formulaciones en barniz pretendiendo sea posible incrementar la eficacia de liberar clorhexidina en sitios colonizados con S. mutans en superficies dentales. En un estudio basado en un tratamiento con barniz de clorhexidina sobre niveles salivales de S. mutans en pacientes con aparatos ortodónticos indicó que la terapia fue aceptada por los niños y resultó efectiva en suprimir niveles salivales de S. mutans por largos periodos, aún cuando fue utilizado a priori a la colocación de aditamentos ortodónticos. No se observó diferencia sobre la eficacia entre formulaciones de barnices con 10% o 20% de acetato de clorhexidina, o, entre niños de diferentes edades o experiencias anteriores de caries (29) .

El uso de la terapia comercial a utilizarse en el presente estudio, funciona a base de liberación mantenida de clorhexidina en el sitio de infección bacteriana durante un periodo suficientemente largo (31) , para reducir la colonización de S. mutans por meses (30, 32) .

El fluoruro tópico ha sido usado como un agente preventivo para la caries en la práctica dental por cerca de 50 años. La administración de fluoruro con el agua de bebida o como suplemento dietético durante el periodo de la formación dental, así como también el realizar aplicación tópica de flúor después de la erupción del diente se consideran medidas preventivas anti-caries (3) . Aunque no hay un acuerdo preciso en cuanto al efecto del

fluoruro sobre la reducción de la caries dental, existen varias hipótesis, estas incluyen las siguientes (33) :

1. Acción sobre la hidroxiapatita del esmalte.
2. Acción sobre las bacterias de la placa dental.
3. Acción en la superficie del esmalte.
4. Alteración de la morfología del diente.

El efecto antimicrobiano del fluoruro es en la vía Emden-Meyerhof de producción ácida, sobre la enzima enolasa la cual transforma el ácido fosfoglicerato (PG) a ácido fosfoenolpiruvato (PEP). Cuando ésta reacción es bloqueada, PG se acumula y luego tales productos como PEP y ácido láctico no se forman (24) . Dicha presencia de la enzima enolasa, se incluye en bacterias estreptocócicas . De este modo la inhibición de la enzima enolasa determina eficazmente la eliminación de la fermentación de carbohidratos desde placa para evitar la asimilación de glucosa dentro de la célula y evita fermentación de otros carbohidratos vía glucolítica (34) .

El efecto antimicrobiano de fluoruro contra bacterias orales asociadas con caries dental ha sido analizada tanto *in vivo* como *in vitro* . Mostrando que el fluoruro reduce la población de *S. mutans* (35) .

Bibby (1942) aplicó una solución de NaF al 0.1% en los dientes de niños a intervalos de 4 meses durante el curso de 2 años y observó una reducción del incremento de caries en un 33%. Siguiendo la prueba de Bibby's, Knutson y Feldman (1947) desarrollaron un procedimiento que implica la limpieza completa del diente seguida por un tratamiento con

NaF al 2% por 3 a 4 minutos, y 3 tratamientos adicionales a intervalos de alrededor de una semana. Esta serie de tratamientos fue recomendada a la edad de 3, 7, 11, y 13 años de modo que puede ser aplicable después de la erupción del diente. La omisión de la limpieza del diente antes del tratamiento reduce la eficacia del mismo (34).

El presente estudio se hizo uso de las terapias con acetato de clorhexidina al 10% y fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa, las cuales son un concepto en la prevención y control de la caries dental, siendo su objetivo el combatir S. mutans, evaluando su efecto antibacteriano por medio de un análisis microbiológico.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental es una enfermedad en la que se encuentran implicados múltiples factores tales como: susceptibilidad del diente (del huésped), elevada ingesta de carbohidratos y a la presencia de microorganismos cariogénicos en la placa dental. Cuando es reducido cualquiera de éstos últimos dos elementos, el proceso caries se limita; sin embargo, la disminución de carbohidratos en la dieta se ha observado que requiere de gran disciplina de parte del paciente, por lo que se ha optado por el ataque o el establecimiento de medidas preventivas sobre la presencia de microorganismos cariogénicos entre los que se encuentra la eliminación mecánica de los mismos o el uso de agentes antimicrobianos.

En el presente estudio se propone un manejo terapéutico, basado en un análisis microbiológico sobre S. mutans que ha sido considerado como uno de los elementos responsables del inicio y desarrollo del proceso carioso para lo cual se ha hecho necesaria la estimación de éste microorganismo con el objetivo de valorar si el tratamiento establecido realmente tiene una repercusión en la disminución de los mismos.

Dos de los agentes antimicrobianos utilizados en el tratamiento preventivo de la caries dental han sido el acetato de clorhexidina al 10% y NaF al 2% en solución acuosa de los que desconocemos cual de éstos resulta más efectivo sobre la disminución del nivel de S. mutans.

La comparación de costos en los tratamientos tópicos a utilizar son notablemente diferentes. Citando el tratamiento con NaF representa un costo mínimo a diferencia del que se requiere aplicando acetato de clorhexidina.

III. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar y comparar la efectividad antibacteriana del uso de NaF al 2% en solución acuosa y acetato de clorhexidina al 10% sobre el nivel de S. mutans en saliva.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar semicuantitativamente S. mutans en saliva antes y después del tratamiento tópico con NaF al 2% en solución acuosa.

Determinar semicuantitativamente S. mutans en saliva antes y después del tratamiento tópico con acetato de clorhexidina al 10%.

Comparar los resultados de ambos tratamientos

IV. HIPÓTESIS

La reducción del nivel de S. mutans en saliva será superior después de la aplicación tópica de acetato de clorhexidina al 10%, que después de la aplicación tópica de NaF al 2% en solución acuosa.

V. MATERIAL Y EQUIPO

A. Instrumentos

Autoclave RIOSSA

Microscopio Carl ZEISS

Incubadora RIOSSA

Balanza analítica METTLER H80

B. Equipo de reactivos:

Prueba diagnóstica comercial CARIESCREEN SM

- 1 pieza de parafina
- Frasco con Buffered Diluent (estéril)
- Tableta de bacitracina
- Tableta generadora de bióxido de carbono
- Cariescreen SM dip-slide (estéril)

Terapia CHLORZOIN de acetato de clorhexidina al 10% (etapa 1 y 2)

C. Reactivos

Cristal violeta SIGMA

Yodo potásico WATSON, PHILLIPS

Yodo MERCK

Acetona J.T. BAKER

Alcohol etílico J.T. BAKER

Safranina MERCK

Agar bacteriológico BIONON

Caldo rojo de fenol y manitol BIONON

Aceite de inmersión

D. Soluciones

Fenol al 5%

Peróxido de hidrógeno al 3%

NaF al 2% en solución acuosa

E. Material biológico

3 mL de saliva (por cada sujeto)

F. Material de vidrio

Matraz Erlenmeyer 500 mL

Probeta volumétrica 250 mL

Pipeta graduada 2 mL

Tubos de ensaye de 13 x 100 mm

Termómetro

Vasos de precipitado de 100 mL

Portaobjetos

Frascos de vidrio color ambar de 10 mL

G. Otros

Gasa

Gradilla

Papel estroza

Cinta adhesiva

Mechero Fisher

Asa bacteriológica y porta asa.

Tripie

Rejilla de asbesto

Guantes de asbesto

Algodón

VI. METODOLOGÍA

A. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES

Se determinó por medio de un análisis microbiológico comercial semicuantitativo el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *S. mutans* por mL de saliva, en un total de 100 escolares de 8 a 10 años de edad, residentes en Cd. Nezahualcóyotl, a partir de los cuales se procedió a seleccionar los escolares con niveles de *S. mutans* superiores a 100 000 UFC/mL saliva (Cuando *S. mutans* está en una concentración superior a 100 000 UFC/mL de saliva es suficiente para obtener una implantación o diseminación). Posteriormente se estableció al azar tres grupos, con un número homogéneo de 15 individuos en cada uno de éstos, para que se aplicaran los tratamientos:

A: Limpieza con copa de hule

Aplicación tópica dental de fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa

B: Limpieza con copa de hule

Aplicación tópica dental con acetato de clorhexidina al 10%.

C: Limpieza con copa de hule (Grupo control)

Clasificados los grupos, la frecuencia de aplicación tópica de los tratamientos fue como sigue:

Grupo A: El fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa se aplicó a intervalos de 15 días por un curso de mes y medio.

Grupo B: El acetato de clorhexidina al 10% sólo se aplicó una vez, de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

La toma de muestra salival se realizó antes y después del tratamiento, correspondiendo a éste último la evaluación microbiológica a 30 y 45 días.

B. Variables

Dependiente: *S. mutans* por mL de saliva

Independiente: Aplicación de tratamiento (Fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa ó acetato de clorhexidina al 10%).

C. Criterios de inclusión.

- **Participantes voluntarios**
- **Escolares**
- **Edad de 8 a 10 años**
- **Nivel de *S. mutans* superior a 100 000 UFC/mL saliva**

- **Aparentemente sanos**
- **No estén tomando ningún medicamento**
- **Autorización escrita**
- **Para la toma de muestra salival, se presentaron en ayunas y sin aseo bucal.**

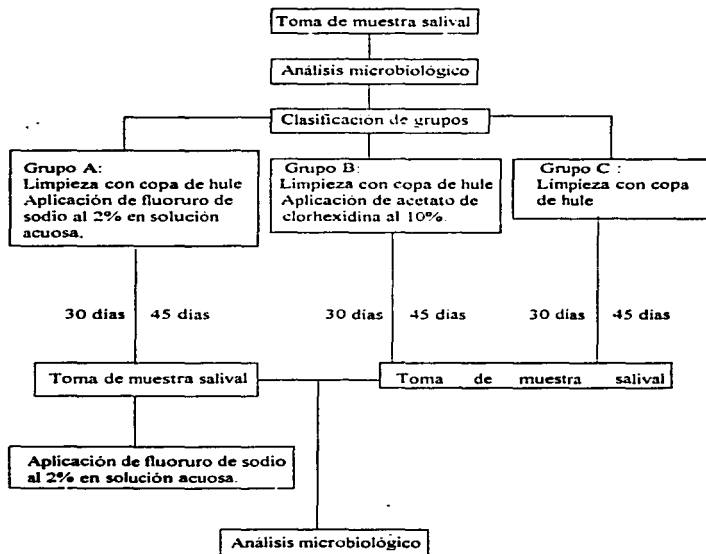
D. Criterios de exclusión

- **Por enfermedad (viral, bacteriana)**
- **Administración de algún medicamento**
- **Nivel de S. pneumoniae inferior a 100 000 UFC/mL saliva**
- **Aquellos escolares que no respetaron las indicaciones previas para la realización de la toma de muestra.**

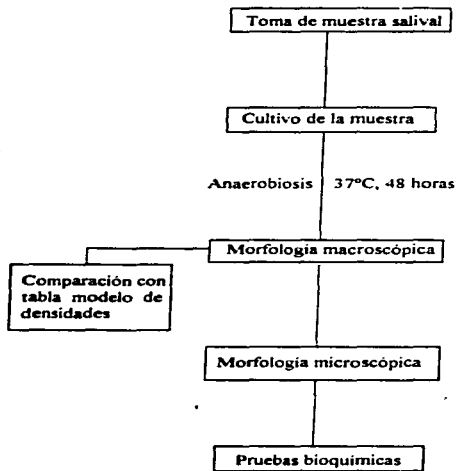
E. Criterios de eliminación

- **Por enfermedad (viral, bacteriana)**
- **Los que no se presentaron a una de las tomas de muestra salival.**

F. DIAGRAMA DE FLUJO
1. METODOLOGÍA GENERAL



2. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



G. PROCEDIMIENTOS

1. RECOLECCIÓN DE MUESTRA SALIVAL

- A) El paciente se presentó en ayunas y sin aseo bucal.
- B) Se les proporcionó a cada uno de los pacientes una pieza de parafina para estimular el flujo salival y remover a S. mutans del diente, se le pidió que la masticará por 1 o 2 minutos, posteriormente se recolectó la muestra salival en un tubo de ensaye estéril de 13 x 100 mm, aproximadamente a la mitad de la capacidad del tubo

2. METODOLOGÍA DE ANÁLISIS BACTERIOLÓGICO SEMICUANTITATIVO COMERCIAL

- A) Se procedió a trabajar en el area de microbiología.
- B) Se escribió la información del paciente en la etiqueta del tubo con la laminilla de inmersión y la del tubo con el diluyente amortiguador.
- C) Al tubo que contiene el diluyente amortiguador (Buffered diluent) se adicionó una tableta de bacitracina (empaquete dorado). Se colocó la tapa al frasco y se dejó cerrado por unos minutos hasta que la tableta se disolvió completamente.

D) Con una pipeta graduada estéril se colocó 1 mL de muestra salival homogenizada perfectamente en el tubo del diluyente amortiguador. Se cerró la tapa fuertemente y se agitó cuidadosamente por aproximadamente 15 segundos.

E) Se retiró la tapa del tubo diluyente amortiguador. Se aflojó la tapa del tubo con la laminilla de inmersión y cuidando de no tocar la superficie del agar, se sacó la laminilla del tubo y se sumergió en el frasco diluyente amortiguador enroscando la tapa.

F) Mientras la laminilla de inmersión está en el tubo del diluyente, se sacó la tableta de bióxido de carbono (empaque plateado) y se colocó en el tubo vacío de la laminilla de inmersión y se agregó dos gotas de agua a la tableta.

G) Inmediatamente, para prevenir la pérdida de bióxido de carbono se sacó la laminilla (eliminar el exceso de líquido) y se colocó de nuevo la laminilla en su tubo inicial conteniendo la tableta de bióxido de carbono y se enroscó la tapa firmemente.

H) Se incubó a 37° C por 48 horas, en posición vertical el tubo de la laminilla de inmersión.

I) Cumplido el tiempo de incubación, se examinó la superficie del agar (ayudándose de una lupa) y se anotaron las características morfológicas coloniales. La densidad de colonias de la laminilla se comparó con el modelo de la tabla de densidades.

3. ANÁLISIS MICROSCÓPICO Y BIOQUÍMICO

Para la identificación de bacterias se realizó un frotis y pruebas bioquímicas que se indican a continuación:

a) Se preparó un frotis satisfactorio de un cultivo de la muestra y se procedió a teñir por la técnica de Gram.

B) Se realizó la prueba de la catalasa. Se transfirió una colonia bien aislada a la superficie de un portaobjetos de vidrio con un asa bacteriológica, se agregó una o dos gotas de peróxido de hidrógeno al 3%. Una efervescencia rápida indica la producción de oxígeno molecular y una prueba positiva.

c) Se sembró una cepa de las obtenidas en medio rojo de fenol y manitol por agitación. Se incubó a 37°C por 48 horas y se procedió a dar la interpretación de la prueba bioquímica.

Interpretación:

1. Positivo

a) Color amarillo

2. Retardada

a) Color anaranjado

b) Volver a incubar

3. Negativa

a) Color rosa-rojizo.

4. APLICACIÓN TÓPICA DE ACETATO DE CLORHEXIDINA AL 10%

Chlorzoin etapa 1 y 2:

Etapa 1: Ingrediente activo, acetato de clorhexidina al 10%.

Etapa 2: Aplicación de una capa de poliuretano, evita eliminación vía saliva.

A) Se realizó profilaxis con copa de hule y agua. Se pidió al paciente que se enjuagara perfectamente.

B) La aplicación se hizo por cuadrante. se procedió a colocar el retractor, se aisló con rollos de algodón y se instaló el eyector de saliva.

Se procuro mantener completamente seco el cuadrante con la jeringa triple.

C) La etapa 1 (frasco etiqueta verde) se procedió a tomar con las pinzas una pequeña torunda de algodón y se introdujo al frasco para empapar con el barniz, a través de un movimiento rápido y en el cual la torunda no quedará demasiado impregnada.

D) Se aplicó el barniz etapa 1 sobre los órganos dentarios, llevándose de incisal a gingival y recorriendo todas las caras del diente. Cuando la torunda ya no contenía barniz, se desechó y se tomó otra procediendo a embeberla en el frasco 1. Se retiró este proceso hasta terminar el primer cuadrante e inmediatamente se procedió a secar con jeringa triple.

E) Al término de la aplicación de la etapa 1 en el primer cuadrante, inmediatamente se cerró el frasco 1 y se procedió a aplicar etapa 2 (frasco etiqueta morada).

F) Se utilizó una nueva torunda de algodón y se aplicó etapa 2, en forma similar a la aplicación de la etapa 1, secando perfectamente el cuadrante.

G) Una vez que se termino de aplicar la etapa 2 en el primer cuadrante, se cerró el frasco etapa 2 y se procedió a aplicar en el siguiente cuadrante hasta terminar con los restantes, de acuerdo a las recomendaciones señaladas en los puntos 4 a 7.

H) Al concluir la aplicación total de la terapia, el paciente debió enjuagarse la boca con agua.

5. APLICACIÓN TÓPICA DE FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA

A) Se realizó profilaxis con copa de hule y agua. Se pidió al paciente que se enjuagara perfectamente.

B) Se aislaron ambos cuadrantes derecho o izquierdo al mismo tiempo, ubicando en su posición los rollos y los portarrollos de algodón.

C) Aislados los dientes se procedió a secar con aire comprimido y se aplicó fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa con aplicadores de algodón, asegurandose de que se traten todas las caras dentarias . La aplicación se realizó simplemente pasando el aplicador o *pintando* las distintas superficies dentarias con el algodón bien mojado con fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa. Este procedimiento se repitió en forma continua y metódica, cargando repetidamente el aplicador de algodón.

D) Los dientes se expusieron al fluoruro durante cuatro minutos.

E) Se retiraron los rollos de algodón y los portarrollos, se dejó salivar al paciente y se repitió el proceso en los otros cuadrantes.

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La prueba de Tukey se realizó para comparar en forma múltiple las medias obtenidas antes, 30 y 45 días después del tratamiento tópico dental con acetato de clorhexidina, fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa y grupo control (37).

El efecto del tratamiento tópico dental sobre la reducción de *S. mutans* se analizó mediante la prueba estadística de comparación de medias pareadas, después de la evaluación microbiológica a 30 y 45 días (38).

Por medio de un análisis univariado de covarianza se comparó en forma conjunta a los tres grupos en estudio, para determinar cual resultó disminuir más *S. mutans*, de acuerdo a dos evaluaciones microbiológicas (30 y 45 días) (39).

VIII. RESULTADOS

Los resultados obtenidos, para cada uno de los tres grupos en estudio, corresponden a valores de antes y después de la aplicación de los agentes antibacterianos, así como del grupo control, y se encuentran indicados en la Tabla 1, 2 y 3. La variable dependiente fue el número de UFC de *S. mutans*/mL de saliva disminuidos después de llevar a cabo el tratamiento correspondiente.

En las tablas mencionadas se muestran los valores de las sumatorias de los datos, la media y la desviación estándar.

La Tabla 4 indica una diferencia estadística al comparar valores de las medias obtenidas de los tres grupos, antes y después del tratamiento.

La Tabla 5 se muestra el efecto de cada tratamiento sobre el número de UFC de *S. mutans*, de acuerdo a la diferencia entre antes y después de la aplicación tópica dental de los antibacterianos, así como del grupo control. Correspondiendo éstos a la evaluación microbiológica efectuada a 30 y 45 días.

Las Tablas 6 y 7, presentan valores de la media y análisis univariado de covarianza respectivamente de acuerdo a la evaluación microbiológica efectuada a 30 días.

Las Tablas 8 y 9, indican valores de la media y el análisis univariado de covarianza respectivamente, pero a una evaluación microbiológica llevada a cabo a los 45 días.

TABLA 1

**UFC DE *S. mutans* /mL DE SALIVA
 ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE
 FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA**

UNIDAD EXPERIMENTAL	ANTES	DESPUÉS	
		30 DÍAS	45 DÍAS
1	250 000	100 000	100 000
2	250 000	50 000	50 000
3	250 000	100 000	250 000
4	1 000 000	1 000 000	1 000 000
5	250 000	100 000	50 000
6	250 000	250 000	250 000
7	250 000	100 000	250 000
8	500 000	100 000	100 000
9	250 000	100 000	100 000
10	500 000	250 000	100 000
11	100 000	100 000	100 000
12	250 000	100 000	50 000
13	250 000	250 000	250 000
14	250 000	100 000	100 000
15	250 000	250 000	250 000
Σ	4 850 000	2 950 000	3 000 000
σ	212 019	233 350	236 038
\bar{x}	323 333	196 666	200 000

Σ = sumatoria; σ = desviación estándar; \bar{x} = media.

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

TABLA 2

**UFC DE *S. mutans*/mL DE SALIVA
 ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN DE
 ACETATO DE CLORHEXIDINA AL 10%.**

UNIDAD EXPERIMENTAL	ANTES	DESPUÉS	
		30 DÍAS	45 DÍAS
1	1 000 000	500 000	250 000
2	500 000	500 000	500 000
3	250 000	100 000	500 000
4	500 000	500 000	500 000
5	100 000	100 000	100 000
6	100 000	100 000	100 000
7	500 000	500 000	500 000
8	250 000	250 000	100 000
9	1 000 000	1 000 000	1 000 000
10	500 000	500 000	250 000
11	250 000	250 000	250 000
12	100 000	100 000	100 000
13	250 000	250 000	100 000
14	1 000 000	1 000 000	250 000
15	250 000	100 000	100 000
Σ	6 550 000	5 750 000	4 150 000
σ	3 25 393	302 765	255 557
\bar{x}	436 666	383 333	276 666

Σ = sumatoria; σ = desviación estándar; \bar{x} = media.

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

TABLA 3

**UFC DE *S. mutans*/mL DE SALIVA
 ANTES Y DESPUÉS DE LIMPIEZA DENTAL CON
 COPA DE HULE (GRUPO CONTROL)**

UNIDAD EXPERIMENTAL	ANTES	DESPUÉS	
		30 DÍAS	45 DÍAS
1	250 000	250 000	250 000
2	100 000	100 000	250 000
3	100 000	250 000	100 000
4	250 000	250 000	250 000
5	100 000	100 000	250 000
6	250 000	100 000	100 000
7	100 000	250 000	500 000
8	250 000	250 000	500 000
9	100 000	100 000	100 000
10	100 000	250 000	250 000
11	100 000	100 000	100 000
12	100 000	50 000	100 000
Σ	1 800 000	2 050 000	2 750 000
σ	73 854	83 824	145 318
\bar{x}	150 000	170 833	229 166

Σ = sumatoria; σ = desviación estándar; \bar{x} = media.

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

TABLA 4

PRUEBA DE TUKEY
UFC DE S. mutans/mL DE SALIVA (10³)

Comparación de tratamiento	CA	FA	CXA	C30	C45	F30	F45	CX30	CX45
CA	0	-173	-286*	-20	-79	-46	50	-233	-126
FA	173	0	-113	152	94	126	123	60	46
CXA	286*	113	0	265	207	204	236	53	160

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años de edad, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: C = control; F = fluoruro; CX = clorhexidina; A = antes de su aplicación; 30 = 30 días después de su aplicación; 45 = 45 días después de su aplicación.

* Valor estadísticamente significativo (P = 0.05)

TABLA 5

**DIFERENCIA ENTRE MEDIAS ANTES Y DESPUÉS DE LA
 APLICACIÓN TOPICA DENTAL DE ACETATO DE
 CLORHEXIDINA AL 10%, FLUORURO DE SODIO AL 2%
 EN SOLUCIÓN ACUOSA Y GRUPO CONTROL**

Tratamiento	N	Media de diferencias		Desviación estándar		t _o	
		30 Días	45 días	30 días	45 días	30 días	45 días
CX	15	- 53 333	- 160 000	34 663	65 864	- 1.53	- 2.42*
F	15	- 126 666	- 123 333	29 222	36 471	- 4.33*	- 3.88*
C	12	20 833	79 166	25 715	42 398	0.81	1.86

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años de edad, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: CX = clorhexidina; F = fluoruro; C = control.

*Valor estadísticamente significativo (P = 0.05)

t_o = t de student

TABLA 6

**COMPARACIÓN DE MEDIAS AJUSTADAS (30 DÍAS)
UFC DE S. mutans/mL DE SALIVA**

Tratamiento	Media	Error STD Media
C	313 647	34 846
CX	276 947	30 542
F	188 801	29 083

Fuente: Directa, muestra salival de niños de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: C = control; CX = clorhexidina; F = fluoruro

TABLA 7

**ANÁLISIS UNIVARIADO DE COVARIANZA
A 30 DÍAS DESPUÉS DE LA APLICACIÓN TÓPICA DENTAL
DE FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA, ACETATO DE
CLORHEXIDINA AL 10% Y GRUPO CONTROL**

Tratamiento	C	CX	F
C		0.4567	0.0093*
CX	0.4567		0.0426*
F	0.0093*	0.0426*	

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: C = control; CX = clorhexidina; F = fluoruro.

*Valor estadísticamente significativo (P = 0.05)

TABLA 8

COMPARACIÓN DE MEDIAS AJUSTADAS (45 DÍAS)
CFU DE *S. mutans*/mL DE SALIVA

Tratamiento	Media	Error STD
		Media
C	330 184	52 782
CX	201 416	46 262
F	194 436	44 052

Fuente: Directa, muestra salival de niños de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: C = control; CX = clorhexidina; F = fluoruro.

TABLA 9

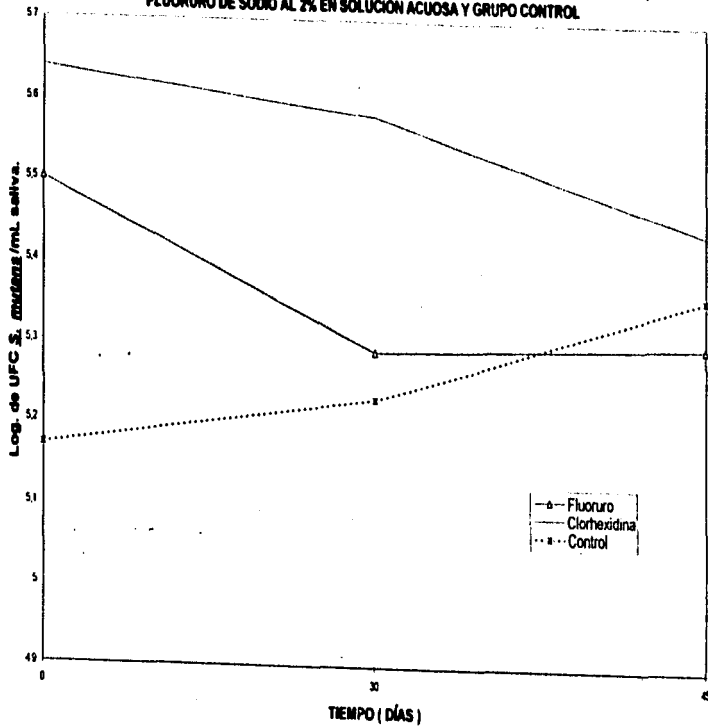
**ANÁLISIS UNIVARIADO DE COVARIANZA
A 45 DÍAS DESPUÉS DE LA APLICACIÓN TÓPICA DENTAL DE
FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA, ACETATO DE
CLORHEXIDINA AL 10% Y GRUPO CONTROL.**

Tratamiento	C	CX	F
C		0.0896	0.0566
CX	0.0896		0.9133
F	0.0566	0.9133	

Fuente: Directa, muestra salival de escolares de 8 a 10 años, del Mpio. de Nezahualcóyotl.

Nota: C = control; CX = clorhexidina ; F = fluoruro.

GRÁFICA 1
UFC DE *S. mutans* /ml. DE SALIVA
ANTES Y DESPUÉS DE LA APLICACIÓN TÓPICA DENTAL DE ACETATO DE CLORHEXIDINA AL 10%,
FLUORURO DE SODIO AL 2% EN SOLUCIÓN ACUOSA Y GRUPO CONTROL



IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La discusión de este trabajo se divide en dos aspectos: tratamiento preventivo y método de diagnóstico semicuantitativo (comercial).

1. Tratamiento preventivo.

La hipótesis planteada en el presente trabajo establece que la reducción del número de UFC de *S. mutans*/mL saliva sería mayor después de la aplicación tópica dental con barniz de acetato de clorhexidina al 10% que después de la aplicación de fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa.

Sin embargo, a través de la investigación, ésta hipótesis se rechaza, ya que registro el fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa una reducción mayor, respecto a la primera evaluación microbiológica, que fue a los 30 días. Sin embargo a 45 días, al comparar ambos tratamientos, éstos tienen un efecto similar en relación a la disminución del número de UFC de *S. mutans*/mL de saliva.

La aplicación de los tratamientos se realizó en niños que presentaron un número mayor a 100 000 UFC de *S. mutans*/mL saliva, (Tabla 1, 2 y 3), considerando que ésta cantidad es suficiente para facilitar el desarrollo de la caries (19, 20).

La necesidad de conocer si existía diferencia entre los tres grupos establecidos de acuerdo a datos de antes y después (30 y 45 días) se hizo por medio de una Prueba de Tukey (Tabla 4), donde al menos un par de medias es diferente, teniendo así un efecto diferente cada uno de los tratamientos realizados

Davis en 1954, fue el primero en observar que la actividad antibacterial de clorhexidina *in vitro* contra un rango de microorganismos. Desde entonces la clorhexidina ha sido extensamente utilizada en medicina y odontología para diferentes propósitos, donde se incluye la caries dental. El objetivo de realizar aplicaciones con soluciones, geles, pastas y enjuagues bucales que contienen clorhexidina, para el caso de caries dental, es reducir el número de *S. mutans* en la cavidad oral (41, 42, 43).

Recientemente se ha demostrado que el uso de barnices que contienen clorhexidina reduce los niveles de *S. mutans*. Entre estos podemos mencionar Cervitec, el cual presenta una aceptable efectividad sobre la población de *S. mutans* oral (44). Otro barniz desarrollado desde la década de los 80's fue llevado a cabo por Sandham, et al., dando grandes perspectivas sobre la aplicación del barniz que contiene acetato de clorhexidina al 10%. Según reporta, su efecto antibacterial en adultos y niños con aplicaciones semanales que varían desde 1-4 veces, originan un efecto sobre el nivel de *S. mutans* en saliva hasta por 7 meses (29, 32).

En el presente trabajo, aplicando acetato de clorhexidina al 10% efectivamente disminuye el número de *S. mutans* oral. Sin embargo, a 30 días la reducción de ésta bacteria no fue estadísticamente significativa, (Tabla 5), a un nivel de confianza de 0.05; por lo que

no existe concordancia con lo descrito por Sandhari, en 1992, que indica que en el lapso de un mes no se detectó S. mutans salival, después de haber aplicado éste en forma repetitiva por tres ocasiones. Por lo tanto, es importante considerar el número de aplicaciones, pues como se observa repercute en la eficacia del tratamiento. Esto fue descrito por Schaecken et. al., en 1989 y Haan en 1989, donde aclaran que la eficacia y duración de la reducción de S. mutans es influenciada por la concentración de barniz de clorhexidina y el número de aplicaciones del mismo (45, 46). Corroborando el efecto producido después de una y dos aplicaciones de barniz de clorhexidina, Ie y Schaecken en 1993, indicaron que existe una mayor disminución de S. mutans después de dos aplicaciones del tratamiento del barniz de acetato de clorhexidina (47).

Los resultados obtenidos muestran que a 45 días después de la aplicación del barniz de acetato de clorhexidina al 10% posee valor estadísticamente significativo, (Tabla 5), por lo tanto el haber aplicado una sola ocasión éste tratamiento muestra efecto antibacteriano, por lo que la eliminación de S. mutans es de forma lenta pero asegurando su efecto hacia la disminución del número de ésta bacteria. Sin embargo no se pudo determinar el tiempo en que es perdurable este efecto, ya que el tiempo establecido para el análisis de este estudio fue muy corto.

Otro método preventivo para la caries dental es la aplicación de fluoruro. Woods en 1971, fue el primero en demostrar el efecto específico de este ion sobre S. mutans (48). Maltz y Emilson en 1982, presentaron el efecto de susceptibilidad de S. mutans y otras

bacterias a diferentes sales de fluoruro sugiriendo que el fluoruro *in vitro* tiene efecto selectivo sobre *S. mutans* (49) .

El uso de fluoruro frecuentemente en odontología se realiza por medio de aplicaciones tópicas, donde se incluyen las pastas dentales, geles, barnices, enjuague bucal, soluciones de fluoruro, etc. En el presente estudio se llevó a cabo la aplicación tópica dental de fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa, efectuando su aplicación con una frecuencia quincenal. Observando que a 30 y 45 días en que se llevó a cabo el análisis microbiológico, se mostró una reducción estadísticamente significativa, (Tabla 5), a un nivel de confianza de 0.05. Giertsen y Sheie en 1995, observaron que utilizar NaF al 0.05% no afecta la viabilidad de los microorganismos presentes en placa. La falta de este efecto sobre los microorganismos de la placa puede deberse a la adaptación de éstos a concentraciones bajas de fluoruro (50) . Loesche en 1977, describe que la reducción de *S. mutans* puede persistir hasta 12 semanas después del tratamiento (48) . Por otro lado Woolley y Rickles, 1971 y Geddes y McNee, 1982 señalan que el efecto de fluoruro desaparece dentro de 4 a 10 días después de terminada la administración de fluoruro (33) . En el presente estudio la tendencia registrada sugiere que éste efecto se mantiene por lo menos 15 días

El valor de las medias (Tabla 6), muestra que utilizar fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa provocó una menor cantidad de UFC de *S. mutans*/mL de saliva, en comparación con acetato de clorhexidina al 10% y grupo control. Con lo anterior se tiene que al comparar en forma conjunta los tres tratamientos a un nivel de confianza al 0.05, sólo presentó el grupo de fluoruro un efecto significativo, (Tabla 7) sobre la disminución de la

cantidad de *S. mutans*, correspondiendo a una evaluación microbiológica efectuada a los 30 días.

El valor de la media a 45 días, realizando así la segunda evaluación microbiológica, mostró una cantidad de UFC de *S. mutans*/mL de saliva similar para el grupo con tratamiento de clorhexidina y fluoruro, mientras que en el grupo control fue en aumento la cantidad de *S. mutans* oral (Tabla 8). Por lo tanto al llevar a cabo la comparación entre los tratamientos, se tiene que al tiempo antes mencionado no hay diferencia estadística entre clorhexidina y fluoruro (Tabla 9).

Cabe mencionar que los estudios realizados por Sandham señala una superioridad notoria al realizar uso del barniz de acetato de clorhexidina al 10% sobre otros agentes antimicrobianos, incluyendo al fluoruro, sin embargo no coincide con los resultados obtenidos, debido a que en el presente estudio solo se llevó a cabo una aplicación del mencionado barniz, al contrario del fluoruro del cual se efectuaron aplicaciones con frecuencia quincenal, esto con el objetivo de contrarrestar pérdidas por abrasión (51).

Con respecto al grupo control el cual solo recibió limpieza dental con copa de hule, se observó un aumento de la cantidad de UFC de *S. mutans*/mL de saliva conforme a las evaluaciones microbiológicas que se llevaron a cabo a 30 y 45 días, determinando que esta medida preventiva no es suficiente para reducir o mantener un número equivalente a 100 000 o mayor de UFC de *S. mutans*/mL saliva, por lo que es necesario emplear alguna medida preventiva para la disminución de esta bacteria.

En la Gráfica 1, se muestra el efecto antibacteriano que presentó acetato de clorhexidina al 10%, fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa y el comportamiento que tuvo el grupo control.

Aunque no se obtuvieron los resultados esperados, se puede aportar con el presente estudio que la utilización de fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa con aplicación quincenal es una buena medida preventiva para el control de *S. mutans* en la cavidad oral. Considerando que esta medida posee una gran ventaja con respecto a condición económica, pues la muestra en estudio pertenece a un rango socioeconómico medio o bajo, donde en ocasiones el remplazar un cepillo dental nuevo para desechar el cepillo dental deteriorado lleva un buen tiempo, entonces la administración del barniz de clorhexidina estaría limitado para ciertos niños que pudieran costear el tratamiento.

2. Método de diagnóstico semicuantitativo (comercial)

El método comercial de diagnóstico microbiológico Cariescreen SM utilizado resultó ser selectivo, ya que la determinación de morfología colonial presentó homogeneidad, y a partir de pruebas preliminares y confirmativas se coincidió con lo establecido en la literatura (19).

Una desventaja del presente método microbiológico es respecto a el número limitado cuantificable, ya que más de 1 000 000 UFC de *S. mutans*/mL saliva no pueden ser

determinados. Aunque en este estudio sólo se encontraron dos casos (uno correspondiente al tratamiento con fluoruro y el otro a clorhexidina). Estableciendo así, que se haga uso o se complemente ésta evaluación microbiológica con un método cuantitativo que determine un número mayor de UFC al descrito anteriormente.

X. CONCLUSIONES

Los resultados demuestran que:

El uso de NaF al 2% en solución acuosa y barniz de acetato de clorhexidina al 10% en aplicación tópica dental tienen efecto antibacteriano contra S. mutans oral.

Una sola aplicación del barniz de acetato de clorhexidina al 10% es capaz de reducir el número de S. mutans oral, siendo estadísticamente significativo ésta disminución a 45 días postratamiento.

La aplicación repetida (intervalos quincenales) con fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa permite reducir el número de S. mutans oral, estableciendo significancia estadística a 30 y 45 días, de acuerdo a las evaluaciones microbiológicas efectuadas en los tiempos mencionados.

El efectuar limpieza dental con copa de hule no es suficiente para reducir el número de S. mutans oral.

Al comparar tratamientos preventivos señalados para la caries dental en el presente estudio, se establece que NaF al 2% en solución acuosa reduce más eficazmente el número de S. mutans oral a un periodo de 30 días de evaluación de su efecto antibacterial.

Siguiendo con el punto anterior se establece que a 45 días en que se realizó la segunda evaluación microbiológica, no se presentó diferencia significativa entre fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa y acetato de clorhexidina al 10%, por lo que se consideran equivalentes.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

El efectuar limpieza dental con copa de hule no es suficiente para reducir el número de *S. mutans* oral.

Al comparar tratamientos preventivos señalados para la caries dental en el presente estudio, se establece que NaF al 2% en solución acuosa reduce más eficazmente el número de *S. mutans* oral a un periodo de 30 días de evaluación de su efecto antibacterial.

Siguiendo con el punto anterior se establece que a 45 días en que se realizó la segunda evaluación microbiológica, no se presentó diferencia significativa entre fluoruro de sodio al 2% en solución acuosa y acetato de clorhexidina al 10%, por lo que se consideran equivalentes.

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

XI. RECOMENDACIONES

Establecer un número mayor de aplicaciones tópicas al hacer uso del barniz de acetato de clorhexidina al 10%, para obtener mayor eficacia sobre su efecto de disminuir S. mutans oral.

Prolongación del tiempo de evaluación global postratamiento, pudiendo ser a 7 meses, de acuerdo al estudio realizado por Sadham que indica una disminución de S. mutans oral detectable al tiempo antes mencionado.

Adicionar un método cuantitativo microbiológico a pacientes que presenten un número mayor a 1 000 000 UFC de S. mutans/mL saliva, debido a que el método microbiológico comercial utilizado no determina cantidades mayores a la mencionada.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Shafer WG, Hine MK, Levy BM. Tratado de patología bucal. México: Interamericana; 1986: 415-41.
2. Houte Jv. Role of micro-organisms in caries etiology. J Dent Res 1994; 73 (3): 672-81.
3. Davis BD, Dulbeco R, Eisen HN, Ginsberg HS. Tratado de microbiología con inclusión de inmunología y genética molecular. México: Salvat; 1990: 655-62
4. Riethe P, Rau G. Atlas de profilaxis de la caries y tratamiento conservador. España: Salvat; 1990: 2.
5. Montville TJ, Cooney ChL, Sinsky AJ. Streptococcus mutans dextransucrase: a review. Adv Appl Microbiol 1978; 24: 55-85.
6. Hawetz E, Melnick JL, Adelberg EA, Brooks GF, Butel JS, Ornsten LN. Microbiología médica 14a. edición. México: Manual moderno; 1992: 213-21.

7. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR, Janda WM, Sommers HM, Winn WC. Diagnóstico microbiológico 3a. edición. Argentina: Panamericana; 1992: 421-34, 438-39.
8. Facklam RR. Physiological differentiation of viridans streptococci. J Clin Microbiol 1977; 5 (2): 184-201.
9. Stoppelaar JD de, Houte Jv, Backer DO. The relations hip between extracellular polysaccharide producing streptococci and smooth surface caries in 13-year-old children. Caries Res 1969; 3 : 190-99.
- 10 Wood R. A dental caries susceptibility test based on the occurreace of Streptococcus mutans in plaque material. Aust Dent J 1971; 16 : 116-21.
11. Edwarsson S, Koch G, Obrink M. Streptococcus sanguis, Streptococcus mutans and Streptococcus salivarius in saliva prevalence and relation to caries increment and prophylactic measures. Odont Revy 1972; 23 : 279-96.
12. Loesche WJ, Roman J, Straffon LH, Loos PJ. Association of Streptococcus mutans with human dental decay. Infect Immunity 1975; 11 : 1252-60.

13. Matsukubo T, Ohta K, Mari Y, Takeuchi N, Tazakue I. A semi-quantitative determination of *Streptococcus mutans* using its adherent ability in a selective medium. Caries Res 1981; 15 : 40-5.
14. Hamada S, Slade HD. Biology, immunology and cariogenicity of *Streptococcus mutans*. Microbiol Rev 1980; 44 : 331-84.
15. Alaluusua S, Savolainen J, Tuomps H, Gronroos L. Slide-scoring method for estimation of *Streptococcus mutans* level in saliva. Scand J Dent Res 1984 ; 92 : 127-33.
16. Zickert Y, Emilson CG, Krasse B. Effect of caries preventive measures in children highly infected with the bacterium *Streptococcus mutans*. Arch Oral Biol 1982 ; 27 : 861-68.
17. Thibodeau EA, O'Sullivan DM. Salivary mutans streptococci and incidence of caries in preschool children. Caries Res 1995 ; 29 : 148-53.
18. Larmas M. Saliva and dental caries : diagnostic test for normal dental practice. Inter Dent J 1992 ; 42 (4) : 199-208.
19. Jordan HV, Laraway R, Snirch R, Marmel M. A simplified diagnostic system for cultural detection and enumeration of *Streptococcus mutans*. J Dent Res 1987 ; 66 (1) : 57-61.

20. Nolte WA. Microbiología odontológica con nociones básicas de microbiología e inmunología. México : Interamericana; 1985: 324-25.
21. Mac Faddin JF. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. México : Panamericana; 1990: 27-38.
22. Gilmore FW, Lund MR. Odontología operatoria. México : Interamericana; 1976: 28-29, 512-15.
23. Klock B, Krasse B. Effect of caries-preventive measures in children with high numbers of *Streptococcus mutans* and Lactobacilli. Scand J Dent Res 1978 ; 86 : 221-30.
24. Menaker L, Morhart ER, Navia MJ. Bases biológicas de la caries dental . España : Salvat; 1986: 413-18, 432-44, 483.
25. Emilson CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. J Dent Res 1994 ; 73 (3) : 682-91.
26. Marsh PD. Antimicrobial strategies in the prevention of dental caries. Caries Res 1993 ; 27 (Suppl 1) : 72-76.

27. Cuenca E, Manua C, Serrall L. Manual de odontología preventiva y comunitaria. España: Masson; 1991: 32-38.
28. Emilson CG, Krasse B, Mostergren G. Effect of a fluoride-containing chlorhexidine gel on bacteria in human plaque. Scand J Dent Res 1976 ; 84 : 56-62.
29. Sadham HJ, Nadeau L, Phillips HI. The effect of chlorhexidine varnish treatment on salivary mutans streptococcal levels in child orthodontic patients. J Dent Res 1992 ; 71 (1) : 32-35.
30. Balanky TE, Sandham HJ. Development of sustained-release antimicrobial dental varnishes effective against Streptococcus mutans in vitro. J Dent Res 1985 ; 64 (121) : 1356-60.
31. Un nuevo concepto en la prevención y control de la caries dental (Estudios diversos). Montreal : PROTEIN, división odontológica; 1994: 1-18.
32. Sandham HJ, Brown J, Chan KH, Phillips HI, Burgess RC, Stockl AJ. Clinical trial in adults of an antimicrobial varnish for reducing mutans streptococci. J Dent Res 1991 ; 70 (11): 1401-8.

33. Newbrun E. Fluorides and dental caries. USA : Charles C. Thomas Publised; 1986: 155.
34. Murrey JJ, Rugg-Gunn AJ, Jenkins GN. Fluorides in caries prevention 3a. edición. British Library Cataloguing in publication, 1991.
35. Loveren CV. The antimicrobial action of fluorides and its role in caries inhibition. J Dent Res 1990 ; 69 (Spec Iss) : 676-81.
36. Brudevistd F, Naujoks R. Caries-preventive fluoride treatment of the individual. Caries Res 1978 ; 12 (Suppl 1) : 52-64.
37. Levin J. Fundamentos de estadística en la investigación social 2a. edición. México : Limusa; 1979: 164-68.
38. Marquez MJ. Probabilidad y estadística para ciencias químico biológicas. México: UNAM; 1988: 284-87, 562.
39. Montgomery DC. Diseño y análisis de experimentos . México : Iberoamericano; 1991: 511-27.

40. van Houte J, Green DB Relationship between the concentration of bacteria in saliva and the colonization of teeth in humans. *Infect Immun* 1974 ; 9 (4) : 624-30.
41. Jarvinen H, Pienihäkkinen K, Houvinen P, Tenovuo J. Susceptibility of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* to antimicrobial agents after short-term oral chlorhexidine treatments. *Eur J Oral Sci* 1995 , 103 : 32-35.
42. Marsh PD. Microbiological aspects of plaque and gingivitis. *J Dent Res* 1992 ; 71: 1431-38.
43. Kuratana M, Luanyjkarmekorn V, Luksila K, et. al. A study into the prevention of fissure caries using an antimicrobial varnish. *Int Dent J* 1995 , 45 : 245-54.
44. Weiger R, Friedrich C, Netuschil L., Schlagenhaut U. Effect of chlorhexidine-containing varnish (Cervitec) on microbial vitality and accumulation of supragingival dental plaque in human. *Caries Res* 1994 ; 28 : 267-71.
45. Shaeken MJM, de Haan P. Effects of sustained-release chlorhexidine acetate on the human dental plaque flora. *J Dent Res* 1989 ; 68: 119-23.

46. **Shaeken MJM, van der Hoeven JS, Hendriks JCM.** Effects of varnishes containing chlorhexidine on the human dental plaque flora. *J Dent Res* 1989 ; 68 : 1786-89.
47. **Ie YL, Schaeken MJM.** Effect of single and repeated application of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in plaque from fissures of premolar and molar teeth. *Caries Res* 1993; 27 : 303-6.
48. **Loesche WJ.** Topical fluorides as an antibacterial agent. *J Prevent Dent* 1977 ; 4 (1) : 21-26.
49. **Maltz M, Emilson CG.** Susceptibility af oral bacteria to various fluoride salts. *J Dent Res* 1982 ; 61 (6) : 786-90.
50. **Giertsen E, Scheie AA.** Effects of chlorhexidine-fluoride mouthrinses on viability, acidogenic potential and glycolytic profile of established dental plaque. *Caries Res* 1995 ; 29: 181-87.
51. **Williams DF, Cunningham J.** *Materiales en la odontologia clinica.* Argentina : Mundi; 1982: 335-37.